les **Orthomyxovirus**

La famille des Myxovirus a rassemblé des virus enveloppés à ARN (- ) qui ont une affinité pour les mucoprotéines (*myxo* signifie mucus).*La famille des Orthomyxoviridae* ne comprend qu'un seul genre : *Influenzavirus,* responsable des grippes pouvant affecter l'homme et certains animaux.

**LES VIRUS DE LA GRIPPE**

**STRUCTURE.** (espèce type : le virus A)

|  |  |
| --- | --- |
| **Virus enveloppé (donc relativement fragile)** | **taille : 80 à 120 nm** |
| **Génome segmenté** **ARN (- )** | composé de 8 segments d'ARN (- ) donc transcriptase associée (à chaque segment) |

**Génome**

Au centre du virus se trouve le génome viral composé de 8 segments d'ARN (- ) protégés par une protéine NP (NP pour nucléoprotéine) qui, en se polymérisant, confère une symétrie hélicoïdale à chacun des 8 segments. Ces segments ont des longueurs variables. Six d'entre eux codent chacun pour une protéine. Les 2 derniers codent chacun pour 2 protéines et ceci nécessite un montage de l'ARN transcrit :

**Enveloppe**

Les virus de la grippe sont des virus enveloppés, donc relativement fragiles : ils sont sensibles à la chaleur, à l'acidité et aux solvants des lipides.

L'enveloppe dérive de la membrane cytoplasmique de la cellule-hôte modifiée :

1°/ par l'apposition des protéines virales M1 et M2 sur la face interne de la membrane qui forment **la matrice**. Cette matrice accroche d'une part les glycoprotéines virales de surface et d'autre part les segments de nucléocapside à l'intérieur du virion. Elle est donc indispensable à la formation d'une particule virale stable.

2°/ par l'inclusion de deux types de spicules de glycoprotéines qui diffèrent à la fois par leur morphologie et par leurs activités biologiques :

**Hémagglutinine**

C'est une glycoprotéine désignée par HA (HA pour Hemagglutinine Activity) composée de deux polypeptides HA1 et HA2 réunis entre eux par un pont disulfure. Elle assure la fixation et de la pénétration du virus :

- HA1 est responsable de la fixation spécifique des virions aux récepteurs cellulaires.
- HA2 est responsable de la fusion de l'enveloppe avec la membrane de la cellule-hôte.

Elle s'attache à l'acide N-acétyl-neuraminique (ou NANA pour N-acetyl-neuraminic acid ou acide sialique) des glycoprotéines membranaires :

La fixation du virus aux cellules de l'arbre respiratoire - premier stade de l'infection - dépend de l'hémagglutinine.

L'activité hémagglutinante des virus résulte également de l'action de l'hémagglutinine qui s'attache à l'acide neuraminique des glycoprotéines de surface des globules rouges.

Les anticorps neutralisant l'hémagglutinine s'opposent donc

* à l'infection : ce sont des anticorps protecteurs,
* à l'hémagglutination : ce sont des inhibiteurs spécifiques de l'hémagglutination.

Le mucus respiratoire contient des glycoprotéines solubles qui portent des résidus d'acide neuraminique. Grâce à eux, le mucus peut saturer l'hémagglutinine virale (c'est un inhibiteur non spécifique de l'hémagglutination) et neutraliser le pouvoir infectieux du virus.

**Neuraminidase**

Les spicules de neuraminidase sont plus rares (1 N pour 5 H environ). Elles ont l'allure d'un clou planté dans l'enveloppe et sont des tétramères d'un polypeptide désigné par NA.

La neuraminidase clive la liaison osidique entre l'acide sialique et le sucre voisin.

Le traitement de cellules par une neuraminidase élimine les résidus d'acide sialique des récepteurs et empêche l'infection par un virus grippal.

Pour la même raison, des globules rouges traités par la neuraminidase ne sont plus agglutinables puisque le récepteur a été détruit par l'enzyme. C'est pour cette raison que la neuraminidase est parfois appelée *DE* (pour receptor destroying enzyme).

La neuraminidase virale suscite la formation d'anticorps neutralisants qui jouent un rôle modeste dans la prévention de l'infection initiale mais qui s'opposent à la dissémination des particules virales néoformées au cours de l'infection.

**En résumé :**

* l'hémagglutinine assure la fixation du virus aux cellules sensibles.
* la neuraminidase ôte les résidus d'acide sialique des glycoprotéines membranaires, ce qui permet le détachement des virions qui bourgeonnent.
* les anticorps dirigés contre l'hémagglutinine empêchent l'infection (ce sont donc des anticorps protecteurs).
* les anticorps dirigés contre la neuraminidase ne neutralisent pas le virus mais limitent sa diffusion, atténuant ainsi la sévérité de l'infection grippale.

**CULTURE**

L'hôte naturel des virus *influenza* est l'homme mais on peut reproduire la maldie chez le furet après inoculation par voie nasale.

La cavité allantoïdienne de l'œuf de poule embryonné est un très bon milieu d'isolement. On décèle les antigènes viraux et en particulier l'hémagglutinine dans le liquide amniotique 3 à 4 jours après l'inoculation.

Les virus se multiplient sur des cultures de cellules fibroblastiques de poulet et sur cultures primaires de rein de singe ou sur cultures en lignée continue de cllules rénales de chien : cellules MDCK (pour Madin-Darby, canin kidney).

L'effet cytopathogène est discret et consiste en une rétraction des cellules qui apparaissent réfringentes et de taille inégale. L'élément essentiel est ici aussi la production d'hémagglutinine qu'on peut révéler par "hémadsorption" ou fixation des globules rouges sur la nappe cellulaire.

**MULTIPLICATION**

**Fixation**

Les particules virales se fixent par l'hémagglutinine (HA1) aux récepteurs cellulaires pourvus d'acide sialique.

**Pénétration**

Le virus pénètre dans la cellule en empruntant un mécanisme cellulaire physiologique : *l'endocytose* : le virus se comporte comme un ligand qui se fixe à son récepteur spécifique.

Les segments de la nucléocapside se dissocient de la matrice et migrent vers le noyau (avec leur complexe de transcription P) où ils pénètrent par un pore de la membrane nucléaire.

Les virus de la grippe sont, avec les rétrovirus, les seuls virus à ARN qui se répliquent dans le noyau.

**Éclipse**

On distingue deux périodes : la transcription en ARN-messagers et la réplication du génome.

**Assemblage**

dans le cytoplasme : la membrane cellulaire est remaniée par l'insertion des glycoprotéines virales HA et NA et par l'apposition, sur la face interne, des protéines M1 et M2 qui vont constituer la matrice.

dans le noyau : la protéine NP gagne le noyau où elle s'associe aux ARN-v formés pour constituer les divers segments de la nucléocapside. Ces segments, assemblés dans le noyau, migrent ensuite vers les régions remaniées de la membrane cytoplasmique.

Le bourgeonnement du virus ne s'avère pas létal pour la cellule qui reste normale en apparence mais qui s'épuise et finit par mourir. Toutefois la destruction des cellules est surtout le fait de la réponse immunitaire cytotoxique.

**CLASSIFICATION DES VIRUS GRIPPAUX**

La famille des Orthomyxoviridae ne regroupait jusqu'à présent que les virus grippaux. Cette famille comporte **3 genres** : *Influenzavirus A, B et C* :

* un genre est défini par les caractères antigéniques des protéines NP et M1.
* les 3 genres n'ont aucun caractère antigénique commun.
* **les virus A**
* Les virus A sont rencontrés chez l'homme et chez divers animaux :
	+ A côté des virus de type A humains responsables de la grippe, existent des virus A animaux responsables d'infections respiratoires de type grippal.
	Pour cette raison, jusqu'en 1980, la classification tenait compte de l'espèce animale d'où le virus était isolé. Par exemple :
* les virus A humains : les virus A animaux :
	+ H0N1 HswN1 *sw = swine (porc)*
	H1N1 Heq1Neq1 *eq = cheval*
	H2N2 Hav3Nav6 *av = oiseaux*
* En 1980, l'ensemble des travaux analytiques et épidémiologiques ayant montré que la structure des virus animaux n'a rien d'original par rapport aux virus humains et qu'un même virus de type A s'avère capable d'avoir plusieurs hôtes, l'indication de l'espèce a donc disparu de la formule.
* On a décrit à ce jour 14 sous-types de HA (H1 à H14) et 9 sous-types NA (N1 à N9) s'associant de façon variable et formant les diverses espèces de virus A.
* Les virus animaux donnés en exemple ci-dessus sont désormais appelés :
	+ HswN1 H1N1 (et donc identique au virus H1N1 humain)
	Heq1Neq1 H7N7
	Hav3Nav6 H11N9
* **le virus B**
* Le virus B est spécifique de l'homme et a été isolé en 1940.
On connaît des variations antigéniques dans les souches mais il n'existe pas à ce jour de subdivision du genre en espèces.
Le virus B est moins virulent et provoque moins de complications que le virus A ; il infecte surtout les enfants.
* **le virus C**
* Le virus C a été isolé en 1949. Il est largement répandu dans la population humaine et aussi chez quelques espèces animales vivant au contact de l'homme (chat, chien).
Difficile à isoler, il a été moins étudié. Des progrès récents ont montré qu'il jouait un rôle non négligeable dans les infections respiratoires saisonnières et qu'il atteignait tous les âges en provoquant des affections grippales typiques.

**LES VARIATIONS ANTIGÉNIQUES**

Deux types de modification apparaissant dans la séquence des glycoprotéines d'enveloppe - hémagglutinine ou neuraminidase - peuvent provoquer un changement de leur spécificité antigénique : les dérives ou les cassures.

**Modifications antigéniques mineures : dérive antigénique ou "drift"**

Elles sont dues à des mutations et concernent aussi bien les virus du genre A que du genre B. Elles sont à l'origine d'épidémies limitées survenant tous les 3 - 4 ans.
Quand un nouveau virus (une nouvelle espèce) apparaît, la population humaine se trouve dépourvue d'anticorps et la première vague épidémique infecte une proportion considérable de la population (30 à 60 %). La multiplication intensive du virus favorise alors l'apparition de mutants.
Certains de ces mutants sont viables : des variants vont désormais circuler ensemble et deux variants apparus l'un à la suite de l'autre présentent des communautés antigéniques ; on observe donc un certain degré de protection croisée car les anticorps dirigés contre le premier variant neutralisent partiellement le second. Le nouveau variant trouve donc une population partiellement immunisée et peut tout au plus déterminer une épidémie modeste : telles sont les épidémies de grippe B, et les épidémies de grippe A entre deux pandémies.
Cependant, au sein des variants qui apparaissent, ne peuvent en "survivre" que ceux qui échappent à la neutralisation par les anticorps. La protection croisée diminue donc progressivement et finit par ne plus concerner deux variants séparés par plus de trois ans de "dérive antigénique" : une épidémie risque alors de se développer.

**Modifications antigéniques majeures : cassure antigénique ou "shift"** Elles surviennent brutalement, à plus de 10 ans d'intervalle et sont dues à des recombinaisons génétiques. Elles ne concernent que les virus du genre A

Les modifications portent sur l'hémagglutinine seule ou simultanément sur l'hémagglutinine et la neuraminidase. Les spicules ont une séquence tout à fait nouvelle. Leur identité antigénique ne montre aucune relation avec les virus précédents : une nouvelle espèce est apparue et l'on crée une nouvelle désignation pour l'hémagglutinine (et la neuraminidase s'il y a lieu).. Ce nouveau virus est sans communauté antigénique avec le virus circulant précédent. Il trouve une population humaine pleinement réceptive puisque dépourvue d'anticorps neutralisants : il en résulte une épidémie mondiale ou pandémie qui révèle l'apparition de chaque nouvelle espèce. Les pandémies récentes : 1957, 1968, 1977, ont commencé en Chine.

Jusqu'en 1977, il était admis que l'apparition d'une nouvelle espèce entraînait la disparition de l'espèce précédente. A cette date est pourtant "réapparue" l'espèce H1N1 et celle-ci coexiste depuis lors avec l'espèce H3N2. La raison de cette coexistence n'est pas encore établie.

En résumé :

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **GLISSEMENT ANTIGÉNIQUE** **(Dérive antigénique - Drift)** | **CASSURE ANTIGÉNIQUE** **(Cassure antigénique - Shift)** |
| NATURE DE LA MODIFICATION GÉNÉTIQUE | mutation | réassortiment génétique |
| VIRUS CONCERNÉS | A B et C | A (C ?) |
| CONSÉQUENCES POUR LE VIRUS | nouveaux variants | nouvelle espèce |
| CONSÉQUENCES POUR L'HOMME | immunité croisée partielle | pas d'immunité |
| CONSÉQUENCES POUR LES POPULATIONS | épidémies | pandémies |

**La surveillance épidémiologique**

La surveillance épidémiologique mondiale de la grippe est coordonnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Deux Centres mondiaux de référence (Atlanta / USA - Londres / Angleterre) collectent les données de Centres nationaux de référence : 118 postes dans 81 pays. (en France : l'Institut Pasteur de Paris et le Laboratoire National de la Santé de Lyon).

Il convient de détecter les variants au fur et à mesure de leur apparition afin de pouvoir analyser leur dérive.

Une souche est identifiée d'après les renseignements suivants :

* l'espèce A B
* l'origine géographique Johannesburg Beinjing
* le numéro de la souche 33 184
* l'année de son isolement 94 93

et, pour le virus A :

* l'hémagglutinine H3
* la neuraminidase N2

La surveillance ne permet naturellement pas de prédireni l'apparition d'une épidémie ou à plus forte raison d'une pandémie, ni son impact, ni son origine, ni sa diffusion géographique...

**Conséquence de la dérive : le vaccin antigrippal annuel**

La composition des souches vaccinales à utiliser dans le vaccin antigrippal est donnée chaque année par l'OMS.

Les Centres nationaux suivent les épidémies de grippe et analysent sur place le(s) virus responsable(s). Ces virus, s'il y a lieu, sont repris et analysés dans l'un des Centres mondiaux de référence qui proposent alors, vers le mois de mars, la formule retenue pour la préparation du vaccin, qui sera mis immédiatement en fabrication et disponible au mois de septembre.
 **LA MALADIE**

**Contamination**

La contamination se fait par les contacts interhumains rapprochés et l'inhalation des gouttelettes respiratoires projetées par la toux et les éternuements d'un sujet infecté ("les gouttelettes de Flügge").

**Formes cliniques** Les formes inapparentes sont fréquentes*.*
Néanmoins, la grippe reste, de nos jours, la 2° cause de mortalité par maladie infectieuse après les pneumonies.
La grippe commune est une maladie habituellement bénigne, de durée limitée à 4 à 7 jours. L'incubation est très courte car c'est une infection purement locale : 1 à 2 jours, parfois moins de 24 heures.

Le début est très brusque (parfois remarqué par le malade à la minute près !) : frissons, hyperthermie instantanée à 39° C. La grippe est surtout caractérisée par des symptômes nerveux : céphalées intenses avec élancements paroxystiques, rachialgies associées à des courbatures généralisées, douleurs articulaires, asthénie La fièvre est élevée (40° C) mais cède rapidement en 3 jours. Une asthénie résiduelle persiste pendant 8 jours.

Les signes respiratoires se limitent généralement à une toux sèche.

La grippe grave ou grippe maligne est une pneumonie virale primitive foudroyante, entraînant une sidération des défenses organiques et humorales et souvent un décès en moins de 4 jours, à moins que le malade ne soit emporté par une crise d'oedème aigu du poumon : les alvéoles pulmonaires sont inondées par un oedème hémorragique diffus.

La grippe maligne est habituellement rare dans la majorité des épidémies (à l'exception de la pandémie de 1918-1919 où les formes foudroyantes, fréquentes, ont touché surtout les adultes jeunes).

La grippe compliquée d'une pneumonie de surinfection atteint essentiellement les personnes âgées ou des patients fragilisés.

Deux autres complications, très rares, ont été associées à la grippe :

. **Le syndrome de Reye**

C'est une encéphalite aiguë grave de l'enfant accompagnée d'une dégénérescence du foie. Le pronostic est redoutable puisque le taux de mortalité atteint plus de 50 % des cas.

**. Le syndrome de Guillain et Barré**

C'est une polyradiculonévrite régressive, et rares sont les sequelles.

**Physiopathologie**

Le virus se multiplie dans l'épithélium cilié des muqueuses respiratoires depuis des fosses nasales jusqu'aux bronchioles : il altère l'épithélium cilié et déprime l'immunité

Toutes ces actions liées à la présence du virus grippal favorisent la colonisation des voies respiratoires par les bactéries commensales qui sont à l'origine des complications pulmonaires.

**LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

Dans la majorité des cas cliniques le diagnostic virologique de la grippe n'est guère utile. Toutefois on dispose maintenant de techniques rapides et peu coûteuses qui permettent de démontrer l'origine virale d'une infection respiratoire aiguë. Elles sont utilisées en milieu hospitalier, en pédiatrie notamment.

La surveillance épidémiologique de la grippe impose un diagnostic virologique plus complet avec typage du virus. Il est réalisé dans les laboratoires spécialisés.

**Méthodes directes**

* **le prélèvement**
	+ Il doit être précoce, car le virus ne reste qu'un temps limité dans les voies respiratoires supérieures : les premières 48 heures sont les plus favorables et l'on isole rarement le virus après le quatrième jour. Il doit être amené rapidement au laboratoire (le virus est fragile) ou congelé à - 70°C
	+ On prélève les mucosités nasales postérieures à l'aide d'une petite sonde branchée sur un système d'aspiration.
* **l'isolement du virus**
	+ par inoculation sur œuf de poule embryonné ou sur culture de cellules MDCK (Madin-Darby canine kidney).
	+ La preuve du développement viral est apportée par la mise en évidence de l'hémagglutinine. L'effet cytopathogène est peu caractéristique.
* **la détection directe des antigènes viraux**

**Immunofluorescence directe** : les sécrétions rhinopharyngées sont centrifugées. Le culot cellulaire est étalé sur lame, fixé et recouvert par un mélange d'anticorps monoclonaux anti-Influenza A, anti-Influenza B, anti-Parainfluenza 1, 2 et 3, anti-Adenovirus marqués à la fluorescéine qui se fixent sur les cellules infectées qui observées au microscope U-V apparaîtront fluorescentes.

**Immunochromatographie** : des tests de diagnostic rapide permettent par cette technique de mettre en évidence sur bandelette en 20 mn les antigènes viraux des virus A et B
**Méthodes indirectes : le sérodiagnostic**

Il n'est pas utile au diagnostic rapide d’une grippe : c'est un diagnostic *a posteriori* puisqu'il repose sur la mise en évidence de l'élévation du taux des anticorps entre un sérum précoce (4 à 7 jours après le début des symptômes et sérum tardif prélevé 15 jours plus tard). La paire de sérums doit être analysée en même temps.

* **La réaction de fixation du complément** (on utilise l'antigène NP et on révèle ainsi les anticorps de genre A ou B)
* **La réaction d'inhibition de l'hémagglutination** avec la souche virale en circulation comme antigène.
* **Une réaction immunoenzymatique (E.L.I.S.A)**

**LE VACCIN**

**indications**

- les sujets atteints de cardiopathies, de broncho-pneumopathies chroniques, de néphropathie ou de diabète.
- les femmes enceintes.
- les personnes âgées de plus de 65 ans.
- les "VIP" (Very Important Personages).

**efficacité du vaccin**

La vaccination confère une protection contre la maladie dans 70 à 80 % des cas. L'immunité apparaît en deux à trois semaines et persiste 5 à 6 mois. Elle réduit très significativement la mortalité chez les personnes à risque mais ne contrôle pas de façon tout à fait satisfaisante les épidémies.

Il faut répéter la vaccination chaque année, d'une part car la durée de l'immunité est courte et d'autre part parce que la composition du vaccin est modifiée tous les ans. En effet, chaque année, les modifications antigéniques des virus conduisent à changer la composition du vaccin. Le réajustement ne fait que suivre - et non précéder - les glissements et les cassures antigéniques et à l'occasion d'une cassure antigénique, le délai nécessaire à la préparation d'un nouveau vaccin risque de ne pas pouvoir empêcher une pandémie.

**les vaccins du futur** L'injection SC ou IM suscite principalement l'apparition d'anticorps IgG. L'infection étant purement locale, ce sont surtout les IgA sécrétoires qui ont un rôle protecteur.

Divers vaccins vivants atténués pouvant être administrés par voie nasale sont à l'étude depuis de nombreuses années. On espère obtenir une immunité locale à la porte d'entrée du virus, ainsi qu'une immunité humorale. Il s'agit de virus grippaux mutants sélectionnés pour leur faible pouvoir pathogène. Ces vaccins locaux font apparaître des taux d'IgA sécrétoires satisfaisants mais sont d'une préparation difficile.

Les vaccins ADN dont le principe de ces vaccins a été découvert fortuitement en 1993 : l'injection d'ADN nu dans le tissu musculaire de la souris suffit pour que les gènes injectés puissent s'exprimer.

Le développement de ces vaccins exige encore des recherches supplémentaires pour s'assurer de l'innocuité du produit injecté (intégration au génome ? pouvoir oncogène ? pouvoir tératogène ?)

**LA CHIMIOPROPHYLAXIE ET LE TRAITEMENT PAR LES ANTIVIRAUX**

Plusieurs antiviraux adaptés au virus de la grippe ont été développés.

**L’Amantadine** (Mantadix©)

Développée depuis de nombreuses années comme antiparkinsonien (1969), ***elle n’agit que sur le type A***, au niveau de la protéine M2 , inhibant ainsi l’action de cette pompe à protons.

Rappel : la protéine M2 est constituée de 4 molécules identiques qui forment un canal à ions . Après la fusion entre la bicouche lipidique virale et la membrane endosomale ,l’acidification de l’intérieur de la particule virale grâce à la pompe à protons permet la déstabilisation de la protéine M1 et la libération des ribonucléoprotéines dans le cytoplasme.

L’Amantadine peut être utilisée préventivement avec d’excellents résultats, mais son action est limitée à la période de traitement et ne se prolonge pas au-delà de quelques heures après la dernière prise.La principale indication est la prophylaxie chez les personnes à risque élevé en période d’épidémie lorsque le vaccin n’est pas disponible.

**La Rimantadine** (Roflual©)

La molécule dérive d'un antiparkinsonien (l'amantadine).

(il a été constaté au cours d'une épidémie de grippe que, dans certaines maisons de retraite, les personnes soumises à un traitement de la maladie de Parkinson par l'amantadine échappaient à la grippe)

Elle empêche la libération de la nucléocapside dans le cytoplasme de la cellule infectée (en inactivant la protéine M2).

La Rimantadine a une activité exclusivement préventive et ***ne concerne que les virus grippaux A***. Le traitement doit être administré le plus tôt possible après le contage et poursuivi au moins 10 jours.

Elle présente l’avantage de provoquer beaucoup moins de réactions secondaires que l’Amantadine.

**Les inhibiteurs de la neuraminidase**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **zanamivir (Relanza)** | **oseltamivir (Tamiflu)** |
| Nom du fabricant | G.S.K. | ROCHE |
| Mode d'action | Inhibiteurs de la neuraminidase |  |
| Site d'action | **Action locale** **(tractus respiratoire)** | **Systémique** |
| Indication |   |  |
| Traitement curatif de la grippe A et B  | **Adulte et adolescent > 12 ans** | **Adulte et enfant > 1 an** |
| Prophylaxie de la grippe A et B | Pas d'indication | **Adulte et adolescent > 13 ans** |
| Voie d’administration | Inhalation  | Orale (gélule, suspension buvable) |
| Contre-indications | Hypersensibilité à l’un des composants de la spécialité |  |
| Précautions | En cas de bronchospasme et/ou d‘altération des fonctions respiratoires parfois brutales et/ou graves | Adaptation de la posologie en cas d’insuffisance rénale  |
| Principaux effets indésirables rapportés après commercialisation | Réactions cutanéesRéactions d'hypersensibilitéBronchospasmes, dyspnée, sensation d'oppression ou de constriction au niveau de la gorge | Réactions cutanéesRéactions d'hypersensibilitéTroubles gastro-intestinauxPerturbation de la fonction hépatique |

**FIN**